UNIVERSITA' DI PISA
ISTITUTO DI PATOLOGIA VEGETALE E DI MICROBIOLOGIA AGRARIA E TECNICA
OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

416

P. GAMBOGI

LA MACULATURA FOGLIARE DELLO SPINACIO DA CLADOSPORIUM VARIABILE (CKE.) DE VRIES

I: *ALCUNI CARATTERI MORFOLOGICI E FISIOLOGICI DEL PARASSITA*

Estratto da « *L'Agricoltura Italiana* » A. LX (XV N. S.) N. 12 dicembre 1960.

TIP. EDITRICE U. GIARDINI - PISA

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
25 APR 1961

UNIVERSITA' DI PISA
ISTITUTO DI PATOLOGIA VEGETALE E DI MICROBIOLOGIA AGRARIA E TECNICA
OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

416

P. GAMBOGI

LA MACULATURA FOGLIARE DELLO SPINACIO DA CLADOSPORIUM VARIABILE (CKE.) DE VRIES

I: *ALCUNI CARATTERI MORFOLOGICI E FISIOLOGICI DEL PARASSITA*

Estratto da « *L'Agricoltura Italiana* » A. LX (XV N. S.) N. 12 dicembre 1960.

TIP. EDITRICE U. GIARDINI - PISA

LA MACULATURA FOGLIARE DELLO SPINACIO DA CLADOSPORIUM VARIABILE (CKE.) DE VRIES. I: ALCUNI CARATTERI MORFOLOGICI E FISIOLOGICI DEL PARASSITA (*)

RIASSUNTO — Attacchi di *Cladosporium variabile* (Cke.) de Vries su colture di spinacio nella Provincia di Pisa, hanno suggerito alcune ricerche di carattere morfologico e fisiologico del parassita.

Esattamente, è stato indagato il suo comportamento in coltura nei seguenti aspetti:

a) Morfologia delle fruttificazioni e del micelio;
b) Influenza sullo sviluppo del pH, della temperatura, delle varie sorgenti del carbonio e dell'azoto, delle sostanze di accrescimento.
c) Influenza sulla germinaizone delle spore della temperatura, del pH e dell'età dei conidi.
d) Produzione di pigmenti.

SUMMARY — The finding of *Cladosporium variabile* (Cke.) De Vries, cause of the leaf-spot on Spinach, largely interesting field cultivations near Pisa, suggested some researches upon the parasite itself.

Was hence studied its behaviour in culture, with particular reference to:

a) Aspect of mycelium and fructifications;
b) Mycelial growth in dependence of pH values, temperature, different sources of carbon and nitrogen and growth substances;
c) Germination of conidia in dependence of pH values, temperature, and different age of conidia.
d) Production of pigments in culture.

In Provincia di Pisa, e precisamente nelle zone di bonifica comprese tra l'Arno ed il Serchio, la coltura dello spinacio ha assunto uno sviluppo particolarmente esteso ed anche importante in quanto quasi tutto il prodotto raccolto viene destinato alla esportazione.

(*) Ringrazio vivamente il Direttore dell'Istituto, Prof. Onorato Verona, per essermi stato prodigo di consigli durante tutto lo svolgimento del lavoro.

Tale coltura meritava quindi di essere particolarmente seguita dal punto di vista fitosanitario, senza meno nelle malattie più ricorrenti e più dannose. Nella nostra zona esse sono rappresentate, senza dire di quelle dovute ad Insetti, Acari e Nematodi, da manifestazioni virosiche varie e da maculature fogliari dovute a *Cladosporium variabile* (Cke.) De Vries ed a *Colletotrichum spinaciae* Ell. et Halst. (**).

Fig. 1 — Foglie di spinacio con tacche nerastre da *Cladosporium variabile* (Cke.) De Vries.

Tali malattie sono attualmente oggetto di studio da parte di questo Istituto ed Osservatorio per le Malattie delle Piante, e su di esse verrà partitamente riferito.

Nella presente Nota si rende conto, per intanto, sulle indagini eseguite intorno alla morfologia e la fisiologia del *Cladosporium variabile* (Cke.) De Vries.

La malattia è nota da tempo in Italia ed all'estero. In Italia fu segnalata la prima volta da Voglino ([14]) nel 1922, come causa di forti

(**) Si riscontrano talvolta anche infezioni peronosporiche, ma al momento esse non rappresentano motivo di forte preoccupazione.

danni alle coltivazioni di spinacio nei pressi di Torino e di Chivasso. Per l'Italia non ci risultano altre segnalazioni.

Fuori d'Italia, per quanto ci consta, tale maculatura è stata segnalata in Ungheria ([5], [6]); in Olanda ([2], [11], [12]); in Gran Bretagna ([8]); in Turchia ([1]); in Francia ([9]); in Jugoslavia ([4]); in Danimarca ([15]); negli Stati Uniti ([3]).

La malattia si presenta sotto forma di tacche rotondeggianti, dapprima minute (1-2 mm.), quindi grandette (fino a 1 cm.) e confluenti, grigiastro-lucide, evidenti su ambedue le pagine fogliari, ma su quella superiore maggiormente infossate, circoscritte da un bordo giallastro o brunastro. Successivamente tali tacche si ricoprono di una muffa nerastra costituita dai conidiofori e dai conidi del fungo, divengono necrotiche e talvolta si perforano.

Il manifestarsi della malattia è principalmente dipendente (da quanto ci risulta da rilievi di campagna) dalla temperatura, avendosi comparsa dei sintomi durante gli autunni miti ed in primavera. Esattamente, la malattia può comparire già sulle prime foglie, sebbene raramente in forme preoccupanti; scompare col sopraggiungere dei freddi invernali e ricompare poi in forma quasi sempre grave verso Fabbraio-Marzo, allorquando la temperatura torna a salire. Infine, se le piante infette rimangono in campo destinate alla produzione del seme, alla fine della primavera assistiamo allora ad una totale invasione delle stesse piante da parte del fungo, tanto che appaiono quasi completamente annerite.

Il parassita fu dapprima riferito a *Heterosporium variabile* Cke. e da taluni Autori ritenuto tuttora tale. Altri Autori ([4], [5], [9], [10]) hanno attribuito a *Cladosporium macrocarpum* Preuss. delle alterazioni fogliari dello spinacio del tutto simili a quelle descritte per *Het. variabile*. De Vries, infine, considera *Heterosporium variabile* ed *Helminthosporium variabile* Cke. come sinonimi di *Cladosporium variabile* (Cke.) n. comb., mentre considera specie separata *Cladosporium macrocarpum*, sebbene essa abbia molti punti di contatto con la precedente. Riferendosi a *Cladosporium variabile*, questo Autore infatti così si esprime: « In the ' Nederlandse Tuinbouwgids ', 1933, this fungus is called *Cl. macrocarpum*

Preuss., which is not to be wondered at because both species resemble each other very much .»

Per quanto concerne le nostre indagini, abbiamo sempre riscontrato su materiale naturalmente infetto forme riferibili al genere *Heterosporium*. Infatti il fungo presenta i seguenti caratteri: i conidiofori fuoriescono dalla superficie in ciuffi di 3-5 o anche più; essi sono semplici, rigiduli, genicolati, debolmente brunastri, portanti nella porzione di-

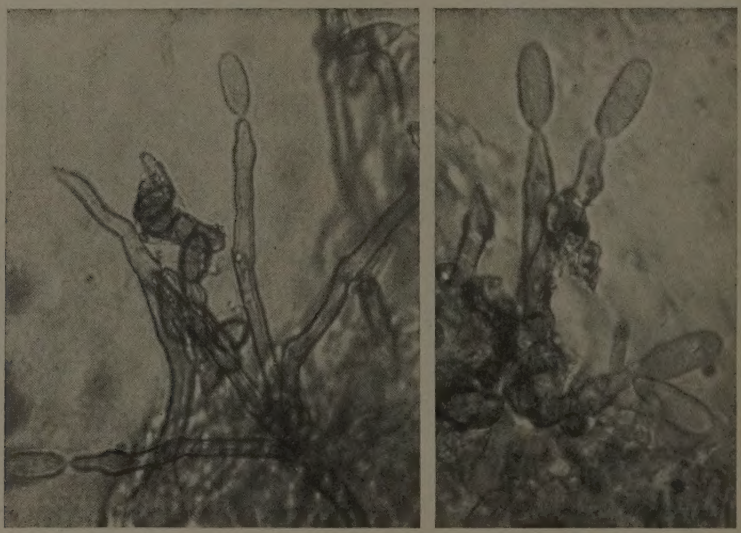

Fig. 2 — Aspetto dei conidiofori e dei conidi in tacche provenienti da infezioni naturali

stale 2-5 (generalmente 3) conidi singoli in corrispondenza di altrettanti punti di accrescimento che si presentano come lievi rigonfiamenti. Ove il conidio si distacca, rimane sul conidioforo una incisione ben visibile. I conidi sono ovoidi fino a cilindracei, continui o settati, finemente verrucosi, debolmente bruni, terminanti alla base in un corto pedicello (Fig. 2).

Ripetuti isolamenti da tale materiale hanno però sempre dato in coltura forme riferibili al Gen. *Cladosporium*.

D'altra parte usando tali ceppi per le infezioni artificiali su piantine tenute in vaso in serra, non soltanto si è avuto costante esito

positivo con uguale sintomatologia a quella della malattia in natura, ma sulle tacche formatesi abbiamo sempre osservato sviluppo di forme riferibili al Gen. *Heterosporium*.

Evidentemente il parassita organizza le proprie fruttificazioni in natura in un modo un po' diverso da quello che presenta nei mezzi colturali: il che spiega il diverso riferimento sistematico dianzi accennato.

I - STUDIO MORFO-FISIOLOGICO DI *CLADOSPORIUM VARIABILE* (CKE) DE VRIES.

1 - Caratteri colturali e morfologici:

Cladosporium variabile si adatta bene a molti substrati colturali sebbene sia caratterizzato da uno sviluppo piuttosto lento. Infatti alla temperatura ottima e nel mezzo migliore le colonie raggiungono il diametro di 8 cm. soltanto dopo 20 giorni dalla semina.

L'accrescimento delle colonie è stato seguito nei sottoelencati substrati solidi, tutti portati a pH 6,8 (*). Agar glucosio (**); agar Czapek (**); agar-fagioli; agar-malto; agar-carota; agar-avena (***), agar-semi di spinacio (****); ed agar-foglie di spinacio (*****).

Il metodo seguito per la misurazione della velocità di accrescimento è stato quello delle colture in piastra. Le piastre sono state seminate

---

(*) Un pH più basso si sarebbe prestato meglio allo sviluppo del fungo, ma è stato impossibile attuarlo per la insufficiente solidificazione dell'agar.

(**) Per l'agar-glucosio e l'agar-Czapek, si sono usate le formulazioni adottate da De Vries per lo studio di *Cladosporium*:

Agar-glucosio: KNO_3 gr. 2; $MgSO_4\,7H_2O$ gr. 0,5; KH_2PO_4 gr. 1; glucosio gr. 50; agar gr. 20; acqua cc. 1000.

Agar-Czapek: K_2HPO_4 gr. 1: $MgSO_4\,7H_2O$ gr. 0,5; KCl gr. 0,5; $FeSO_4$ gr. 0,01; $NaNO_3$ gr. 2; glucosio gr. 30; agar gr. 15; acqua cc. 1.000.

(***) Crema d'avena Buitoni gr. 30; glucosio gr. 10; $FeSO_4$ tracce; agar gr. 20; acqua cc. 1000. Si porta ad ebollizione sempre agitando, si distribuisce senza filtrare.

(****) Grammi 35 di semi di spinacio si fanno bollire per circa 15' in 1000 cc. di acqua. Si filtra per carta, si aggiunge glucosio gr. 20 ed agar gr. 20. Si filtra per ovatta e si distribuisce.

(*****) Grammi 40 di foglie di spinacio fresche si fanno bollire per circa 15' in 1000 cc. di acqua. Si filtra per carta, si aggiunge glucosio gr. 20 ed agar gr. 20. Si filtra per ovatta e si distribuisce.

al centro con una goccia di sospensione di spore della densità di 500.000/cc. e periodicamente è stato rilevato il diametro delle colonie. Tesi in triplicato. Per tutti i substrati sono state saggiate diverse temperature.

I risultati colturali avuti, limitatamente all'esito finale e indipendentemente dal ritmo di crescita che verrà discusso più avanti, sono stati i seguenti:

TAB. I - DIAMETRO DELLE COLONIE IN MILLIMETRI, SVILUPPATE SU SUBSTRATI DIVERSI ALLE TEMPERATURE OTTIMALI DI 20° - 22° C., AL VENTESIMO GIORNO DI COLTURA.

Substrato	Diametro	Substrato	Diametro
Agar-carota	81,5	Agar-semi di spinacio	55,5
Agar-malto	73,0	Agar-foglie di spin.	54,0
Agar-avena	71,0	Agar-fagioli	53,0
Agar-glucosio	57,0	Agar-Czapek	45,0

Appare chiaro dalla tabella che il substrato migliore è risultato l'agar-carota; che agar-malto ed agar-avena ottimamente si prestano allo sviluppo del fungo; che gli agar di glucosio, semi e foglie di spinacio e fagioli permettono uno sviluppo mediocre; ed infine l'agar-Czapek consente uno sviluppo inferiore a tutti, ma non molto discosto da quello registrato per agar-glucosio.

L'aspetto delle colonie nei singoli substrati risulta il seguente:

Agar-carota:

Colonie piuttosto dense, di consistenza feltroso-cotonosa, a bordi pressochè regolari, leggermente sfumati in un sottile bordo periferico ialino. Il loro spessore, che è sottile verso la periferia, va gradatamente aumentando verso il centro. Colore fondamentale grigio-verde scuro con sfumature superficiali grigio-cenere. Retro di colore grigio-nerastro.

Fruttificazioni abbondanti anche dopo ripetuti passaggi sullo stesso mezzo.

Agar-malto:

Colonie dense, feltrose, a bordi regolari e piuttosto netti. Spessore abbastanza rilevato, specialmente al centro. Presenza di numerose striature radiali infossate. Colore fondamentale grigio-verde scuro con sfumature superficiali grigio-cenere. Retro di colore grigio-nerastro. Fessurazioni occorrenti nel mezzo.

Fruttificazioni abbondanti anche dopo ripetuti passaggi sullo stesso mezzo.

Agar-avena:

Colonie dense, feltroso-cotonose, a bordi regolari e netti. Spessore abbastanza rilevato, specialmente al centro. Presenza di poche striature radiali infossate. Colore grigiastro con tendenza a saltazioni di micelio rosato. Retro grigiastro o vinoso. Fessurazioni occorrenti nel mezzo.

Fruttificazioni abbondanti o completamente mancanti in corrispondenza delle saltazioni.

Agar-glucosio:

Colonie piuttosto dense, feltrose, a bordi regolari e netti. Spessore poco rilevato. Colore grigiastro con forte tendenza a saltazioni di micelio rosato. Retro grigiastro o vinoso. Fessurazioni occorrenti nel mezzo.

Fruttificazioni presenti oppure mancanti in corrispondenza delle saltazioni.

Agar-semi di spinacio:

Colonie piuttosto dense, di consistenza feltroso-cotonosa, a bordi pressochè regolari, leggermente sfumati. Spessore sottile alla periferia, rilevato al centro. Colore fondamentale grigio-verde scuro con sfumature superficiali grigio-cenere. Retro di colore grigio-nerastro.

Fruttificazioni abbondanti anche dopo ripetuti passaggi sullo stesso mezzo.

Agar-foglie di spinacio:

Colonie piuttosto dense, feltrose, a bordi piuttosto regolari e netti. Spessore poco rilevato. Presenza di striature radiali infossate. Colore

grigio-verdastro. Retro di colore grigio-nerastro. Fessurazioni occorrenti nel mezzo.

Fruttificazioni presenti anche dopo ripetuti passaggi sullo stesso mezzo.

Agar-fagioli:

Colonie dense, di consistenza feltroso-vellutata, a bordi regolari e netti. Abbastanza relevate. Presenza di striature radiali infossate. Colore olivaceo-bruno. Retro di colore grigio-nerastro. Fessurazioni occorrenti nel mezzo.

Fruttificazioni abbondanti anche dopo ripetuti passaggi sullo stesso mezzo.

Agar-Czapek:

Colonie abbastanza dense, cotonose, a bordi piuttosto regolari o anche sinuosi, ma sempre abbastanza netti. Popo rilevate. Presenza di striature radiali infossate. Colore grigiastro o cenerino, anche sul retro della colonia. Fessurazioni occorrenti nel mezzo.

Fruttificazioni scarsamente presenti e tendenti a scomparire con ripetuti passaggi sullo stesso mezzo.

Nei corrispondenti mezzi liquidi lo sviluppo è stato ottimo. Non è stato proceduto alla valutazione comparativa della velocità di accrescimento per i differenti mezzi, come era stato fatto per quelli solidi. E' stata peraltro determinata la curva di accrescimento per un mezzo standad (Fig. 3). Abbiamo scelto allo scopo il liquido di Czapek, in quanto esso rappresenta un equilibrato substrato minerale di uso corrente, particolarmente adatto, inoltre, alle successive prove di carattere fisiologico che sarebbero state compiute.

Tale curva ci informa che il fungo presenta una fase di latenza piuttosto lunga (fino al 15° giorno dalla semina), una fase logaritmica piuttosto ripida (dal 15° al 25° giorno), una fase stazionaria piuttosto breve (dal 25° al 30° giorno) e quindi una progressiva fase di decrescita.

La morfologia del parassita, studiata sia in mezzi liquidi sia in mezzi solidi, risponde al seguente quadro.

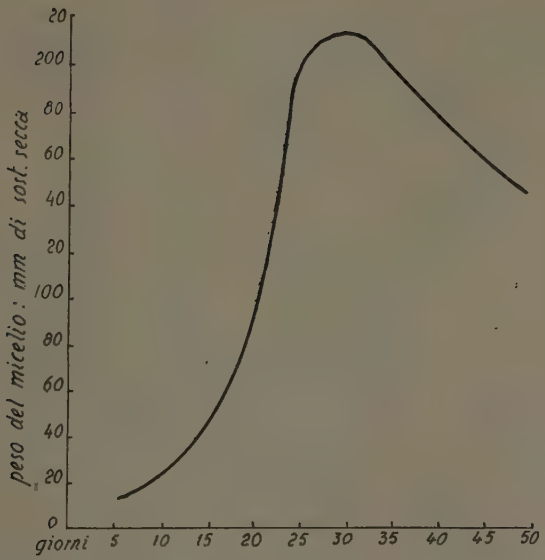

Fig. 3 — Curva di accrescimento di *Cl. variabile* in liquido di Czapek.

Micelio costituito da ife immerse o aderenti al substrato di caratteristica forma toruloide, con elementi irregolari a grosse pareti, bruni, lisci. Lo spessore di tali ife è solitamente rilevante, potendo raggiungere i 10 µ. Da queste ife sorge il micelio aereo costituito da ife più sottili, brune, settate, talvolta incrostate da una sostanza cristalliforme bruna, talvolta lisce, dello spessore variante dai 2 ai 7 µ. Tali ife hanno per lo più andamento sinuoso o tortuoso, si ramificano, si intrecciano fra loro. Sono pure presenti ife aeree molto sottili (µ 0,5-1) caratteristicamente molto tortuose e avvolte a spirale, con frequenti formazioni a pettine, ialine o subialine.

Dalle grosse ife toruloidi sorgono inoltre i rami conidiofori. Essi in generale hanno origine terminalmente alla ifa, ma possono nascere con relativa frequenza anche da ogni singola cellula intercalare ed essere così inseriti in posizione laterale (Fig. 4).

I conidiofori hanno una lunghezza variabile dai 50 ai 300 µ, uno spessore piuttosto costante di 3-5 µ, sono bruni, lisci, genicolati, regolarmente settati, portanti apicalmente poche colonne conidiche che co-

stituiscono un apparato piuttosto lasso. Spesso il conidioforo, dopo aver dato la prime fruttificazioni, da origine ad un prolungamento apicale che può rimanere sterile oppure può dare a sua volta luogo ad una seconda serie di fruttificazioni, distante dalla prima. Catene conidiche

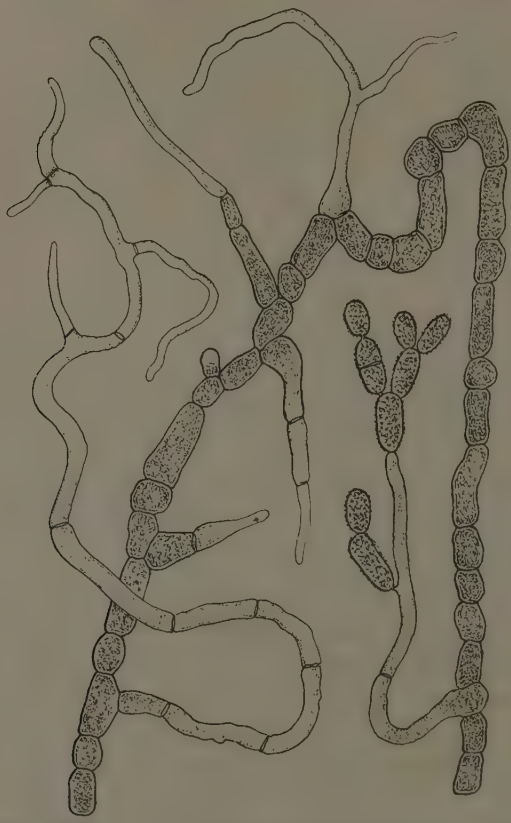

Fig. 4 — La figura mostra come sorgono dalle ife toruloidi, il micelio aereo ed i conidiofori.

di 3-5 elementi, raramente di più. Di solito un ramoconidio da luogo a non più di due catene di conidi. I conidi sono bruni, finemente rugosi, 1-2-cellulari, di forma ovalare, limoniforme. subcilindrica od ovoidale. I conidi 2-cellulari non sempre hanno estremità limoniformi, ma spes-

so esse appaiono arrotondate. In corrispondenza del setto possono essere costretti, oppure non. Essi rappresentano il 10-12% dei conidi (per agar-glucosio 11,4%).

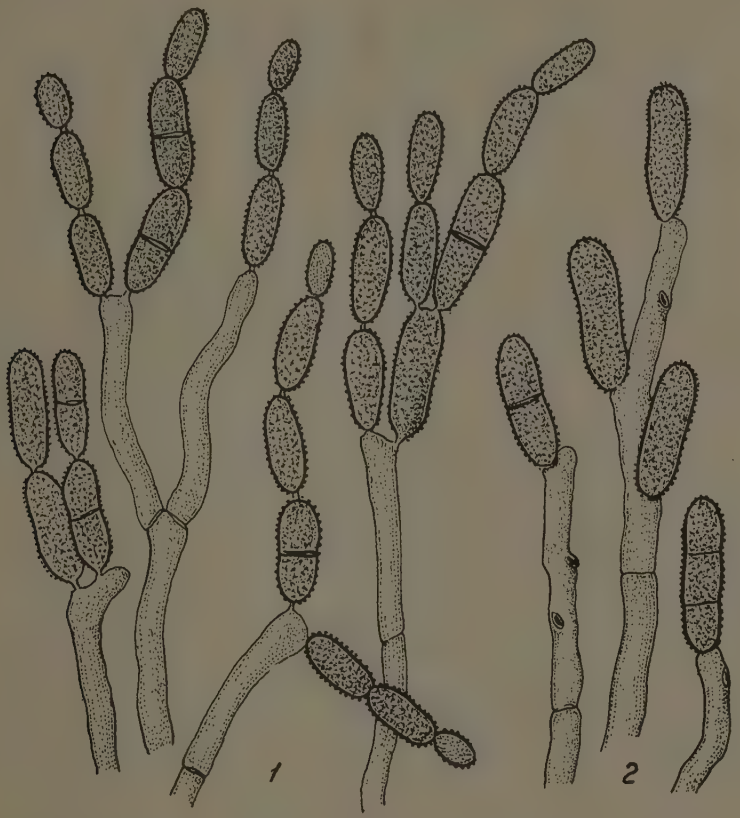

Fig. 5 — 1) Conidiofori e conidi in coltura e 2) su piante naturalmente infette.

Le dimensioni, rilevate in agar-glucosio, sono le seguenti:

Conidi 2-cellulari:

μ 9,6 (12,0 - 16,8) 20,4 x 4,8 (6,0 - 8,4) 10,8

Lunghezza media = μ 14,18 ± 0,21

Larghezza media = μ 6,78 ± 0,13

Conidi 1-cellulari:

μ 4,8 (8,4 - 12,0) 15,6 x 3,6 (4,8 - 7,2) 8,4

Lunghezza media = μ 9,80 ± 0,21

Larghezza media = μ 6,06 ± 0,12

Differenze significative per i diversi substrati, non sono state osservate.

2 - Influenza del pH sull'accrescimento.

Per queste prove è stato usato il liquido di Czapek, previamente acidificato con acido lattico fino a pH 3,1. Successivamente alla sterilizzazione, veniva controllato il pH e quindi alcalinizzato con NaOH fino ai valori seguenti: 3,1; 4,1; 5,2; 6,2; 7,4; 8,4.

Furono usate beute da 100 cc. contenenti 50 cc. di liquido; seminate con una goccia di sospensione di spore ciascuna, della densita di 500.000/cc. ed incubate a 22° C. Le prove furono condotte in sestuplo. I risultati conseguiti sono riportati in tabella II; ogni dato esprime la media dei sei valori rilevati.

Tab. II

pH iniziale	pH al 13° giorno di coltura	pH al 27° giorno di coltura	peso micelico finale gr.
3,1	3,20	3,37	0,0034
4,1	6,40	6,60	0,2674
5,2	6,45	7,41	0,3865
6,2	6,96	7,75	0,2546
7,4	7,43	7,65	0,1847
8,4	7,83	7,58	0,0197

I dati espressi in Tabella II informano che il pH ottimo per lo sviluppo del fungo si trova intorno a 5 e che il punto isometabolico è vicino alla neutralità.

L'accrescimento in relazione al pH iniziale del mezzo di coltura, è sintetizzato dal grafico seguente:

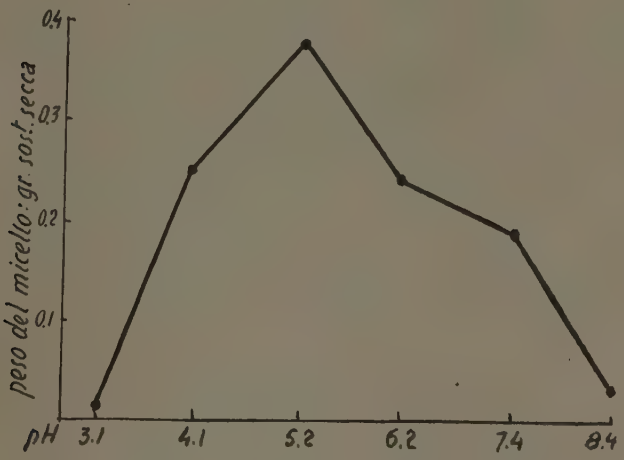

Fig. 6 — Influenza del pH sullo sviluppo di *Cl. variabile*.

Per i valori di pH compresi fra 4,1 e 6,2, subito al 4° giorno di coltura si nota uno sviluppo abbastanza intenso nel fondo della beuta ed anche un certo sviluppo in superficie. A pH 7,4 lo sviluppo sommerso, come quello superficiale, sono più scarsi. Ai valori di pH estremi si nota un qualche sviluppo solo verso il termine della coltura, sviluppo che non tende, col tempo, ad aumentare considerevolmente.

3 - Influenza della temperatura sullo sviluppo.

L'influenza della temperatura è stata studiata seguendo la velocità di accrescimento delle colonie in piastra, nei diversi substrati e alle diverse temperature. Il metodo è stato lo stesso di quello seguito per lo studio dei caratteri colturali. Tesi in triplicato. I risultati riassuntivi finali sono riportati in Tab. III ed ogni dato esprime la media dei tre rilevati.

TAB. III - DIAMETRO DELLE COLONIE IN PIASTRA (ESPRESSO IN mm.) AL 20° GIORNO DI COLTURA.

Substrato	Temperatura C°.									
	10	14	18	20	22	24	26	28	30	34
Semi spin.	25,5	40,5	44,5	55,0	55,5	49,0	44,0	40,5	22,5	—
Foglie spin.	22,5	40,0	40,5	54,0	51,0	46,0	35,5	39,5	23,0	—
Avena	41,5	44,0	63.0	66,0	71,0	66,5	56,0	49,0	23.5	—
Malto	39,0	65,5	67,0	68,0	73,0	71,0	66,0	62,5	25,0	—
Carota	24,0	44,0	74,0	81,5	77,5	73,0	53,0	50,0	24,0	—
Fagioli	21,0	43,5	43,0	50,0	53,0	52,0	44,0	38,0	22,0	—
Czapek	19,5	27,5	30,0	34,5	45,0	33,0	30,0	29,5	19,0	—
Glucosio	18,0	26,0	39,0	50,0	57,0	42,5	40,5	40,5	21,5	—

Come indicano i risultati in Tab. III, la temperatura ottima per tutti i substrati saggiati si aggira intorno ai 20° - 22° C.

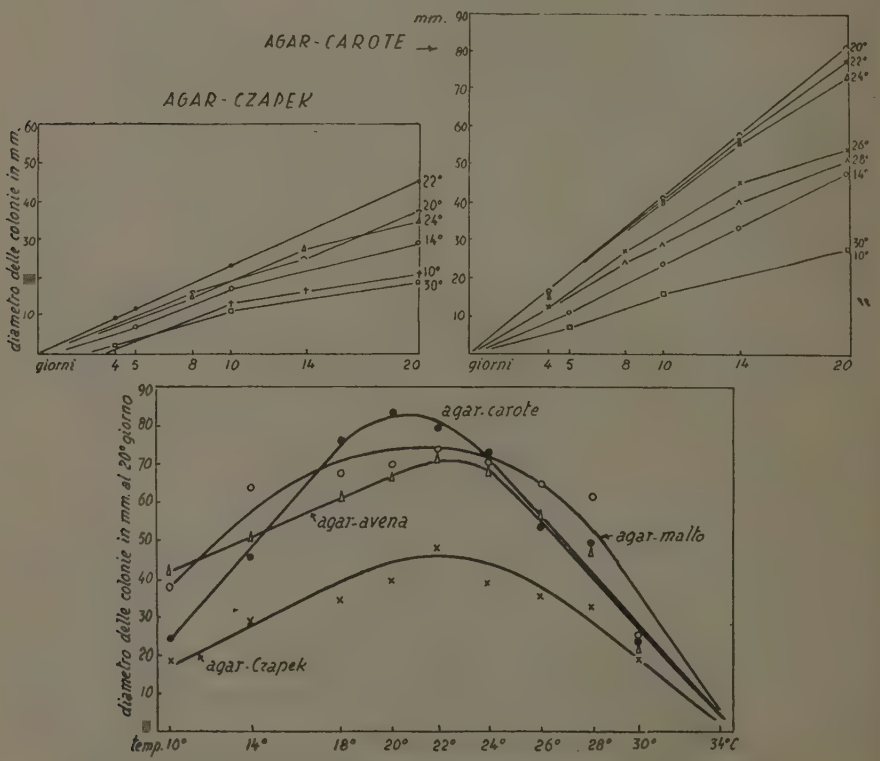

Fig. 7 — Influenza della temperatura sullo sviluppo di *Cl. variabile*.

Riguardo alle curve di sviluppo registrate in ogni mezzo alle diverse temperature, diremo che esse presentano alcune caratteristiche interessanti. La curva che esprime l'accrescimento alla temperatura ottima si traduce pressochè in una linea retta, in quanto lo sviluppo si manifesta con progressione costante. Man mano che ci si discosta dalla temperatura ottimale, sia in più che in meno, lo sviluppo delle colonie gradatamente manifesta un progressivo rallentamento nel tempo. In altre parole, nei primi giorni di sviluppo la curva si presenta abbastanza ripida, poi tende ad abbassarsi sempre più man mano che procede l'accrescimento della colonia.

Nell'impossibilità di riportare i numerosi dati, vengono presentati a titolo di esempio due grafici dimostranti il ritmo di crescita alle varie temperature in agar-carota, cioè nel substrato dimostratosi migliore, ed in agar-Czapek (Fig. 7).

Altro rilievo di un certo interesse è il comportamento che si registra alle diverse temperature (specie a quelle più basse) nei vari substrati, come chiaramente dimostrano i dati di Tab. III, anch'essi tradotti in grafico.

4 - Influenza delle varie sorgenti alimentari.

a) *Del carbonio.*

Per queste prove è stato usato, come mezzo fondamentale, il liquido di Czapek al quale, al posto del glucosio scelto per il controllo, sono state sostituite diverse altre sorgenti di carbonio con uguale quantità in peso dell'elemento. In tutte le tesi il pH fu portato a 5,2 e controllato dopo sterilizzazione a 110° per 15'. Furono usate beute da 100 cc. contenenti 50 cc. di liquido; seminate ciascuna con una goccia di sospensione di spore alla densità di 500.000/cc. ed incubate a 22° C. Le prove furono condotte in quadruplo. Dopo 25 giorni di coltura, venivano separati i feltri micelici, essiccati a 110° C e pesati. Era misurato il pH finale per ogni beuta. I risultati ottenuti furono quelli riportati in Tabella IV. Ogni dato esprime la media dei quattro rilevamenti ottenuti per ogni tesi.

Tab. IV

Sorgente di C	Peso micelico al 25° giorno	Differenza gr.	pH finale
Glucosio (=controllo)	0,3786±0,01	—	7,5
Saccarosio	0,3538±0,008	— 0,0248	7,8
Maltosio	0,3886±0,008	+ 0,0100	8,2
Galattosio	0,3166±0,01	— 0,0620	7,7
Lattosio	0,1719±0,008	— 0,2067	7,5
Amido	0,1733±0,01	— 0,2053	7,2
Mannite	0,0176±0,02	— 0,3610	6,7
Glicerina	0,0056±0,02	— 0,3730	6,0
Sodio succinato . . .	0,0031±0,02	— 0,3755	5,4
Sodio acetato	—	—	5,2
Potassio tartrato neutro .	—	—	5,2

Dai risultati risulta quanto segue. Il fungo risente sensibilmente delle diverse sorgenti di carbonio. Saccarosio e maltosio non hanno dimostrato di esercitare influenza significativamente diversa dal glucosio. Il galattosio permette un buon sviluppo, ma la media dei valori riscontrati risulta inferiore al controllo di una quantità significativa. Lattosio ed amido sono in eguale misura poco utilizzati. I due alcoli saggiati mannite e glicerina non hanno permesso che un debolissimo, praticamente nullo, sviluppo. I sali di acidi organici saggiati, hanno avuto esito negativo.

b) *Dell' azoto.*

Anche per queste prove è stato usato come mezzo fondamentale il liquido di Czapek al quale, al posto del $NaNO_3$ scelto per il controllo, sono state sostituite diverse altre sorgenti azotate con uguale quantità di azoto in peso. Uguale alla precedente prova il modo di procedere. I risultati ottenuti furono quelli riportati in Tab. V. Ogni dato esprime la media dei quattro valori ottenuti per ogni tesi.

L'influenza delle varie sorgenti azotate saggiate è apparsa assai interessante: l'azoto nitrico è bene utilizzato, ma non l'azoto ammoniacale che sembra addirittura esercitare azione deprimente. Infatti nel nitrato ammonico non si è avuto sviluppo diverso da quello che si è ottenuto

TAB. V

Sorgente di N	Peso micelico al 25° giorno	Differenza gr.	pH finale
$NaNO_3$ (=controllo)	0,3786±0,01	—	7,5
NH_4NO_3 . . .	0,0207±0,02	—0,3579	5,2
$(NH_4)_2SO_4$	0,0223±0,01	—0,3563	5,2
Peptone	0,5852±0,01	+ 0,2066	6,7
Idrolisato di caseina . .	0,3805±0,01	+ 0,0019	7,1
Arginina	0,3654±0,008	—0,0132	6,8
Asparagina	0,3851±0,01	+ 0,0065	7,4
Triptofano	0,3872±0,02	+ 0,0086	7,5
Glicina	0,3798±0,008	+ 0,0012	7,5

in solfato ammonico. In peptone lo sviluppo è stato significativamente superiore al controllo, mentre per l'idrolisato di caseina ed i vari aminoacidi saggiati lo sviluppo è stato uguale al controllo.

Ritornando alla utilizzazione dell'azoto minerale, il registrato comportamento di *Cladosporium variabile* lo pone nel gruppo dei funghi nitratofili e suggerisce ulteriori particolari ricerche (*).

5 - ESIGENZE AUXOLOGICHE.

Per queste prove è stato usato il liquido di Czapek, previamente portato a pH 5,2, aggiunto delle vitamine, sterizzato e nuovamente controllato nel pH. Sterilizzazione a 110° C per 15'.

Furono usate beute da 100 cc. contenenti 50 cc. di liquido; seminate con una goccia ciascuna di sospensione di spore della densità di 500.000/cc. ed incubate a 22° C. Dopo 25 giorni di coltura venivano separati i feltri micelici, essiccati a 110° C e pesati. Era misurato il pH

(*) La utilizzazione preferenziale da parte dei funghi del gruppo NO_3- o del gruppo NH_4+ è ben nota, tanto che gli stessi funghi vengono distinti, in rapporto a tale caratteristica, in nitratofili e ammoniofili. Si danno elenchi degli uni e degli altri.

E' questa peraltro una distinzione che, formulata da LAURENT nel 1889 ([7]) deve ovviamente essere intesa in modo relativo poichè, come giustamente osserva SAKAMURA ([10]) l'utilizzazione di sali azotati è talvolta semplicemente condizionata ad altre caratteristiche alimentari.

finale per ogni beuta. L'aggiunta di vitamine è stata fatta nelle seguenti quantità:

Controllo = Vitamine O

Tiamina	mg. 0,5	su 1000 cc.		
Biotina	» 0,005	»	»	»
Piridossina	» 0,5	»	»	»
Estratto di lievito	» 5,0	»	»	»

Pari quantità di ciascuna vitamina vennero messe anche nelle varie combinazioni effettuate. I risultati ottenuti sono riportati in Tab. VI. Ogni dato esprime la media fra i quattro valori ottenuti per ogni prova.

TAB. VI

Vitamine	Peso micelico al 25° giorno	Differenza gr.	pH finale
Controllo	0,3865±0,02	—	7,4
Tiamina	0,4190±0,02	+ 0,0325	7,6
Pirossidina	0,3971±0,008	+ 0,0106	7,5
Biotina	0,3419±0,01	— 0,0446	7,2
Tiamina + Biotina . .	0,4150±0,008	+ 0,0285	7,5
Tiamina + Piridossina .	0,4201±0,008	+ 0,0336	7,7
Biotina + Piridossina .	0,4312±0,01	+ 0,0447	7,8
Tiam. + Biot. + Pirid. . .	0,4191±0,008	+ 0,0326	7,7
Estratto di lievito . . .	0,4265±0,09	+ 0,0400	7,5

I valori medi trovati presentano differenze rispetto al controllo che non sono significative, pertanto siamo portati a concludere che il nostro fungo non ha particolare bisogno, per il suo accrescimento, di vitamine già formate presenti nel mezzo.

II - LA GERMINAZIONE DELLE SPORE

Le spore di *Cladosporium variabile* presentano una certa facilità di germinazione. Non è raro il fatto di osservare in coltura conidi ancora attaccati ai conidiofori già germinati in lunghi sottili tubi, contorti e brevemente ramificati, che avvolgono l'apparato fruttifero. I conidi di-

staccati, in goccia di acqua, presentano un'alta e considerevolmente pronta germinabilità.

I conidi germinano in 1-2, raramente 3, tubi germinativi per cellula, semplici, continui, ialini o subialini. Dopo 24 ore sono abbastanza lunghi, ramificati e settati.

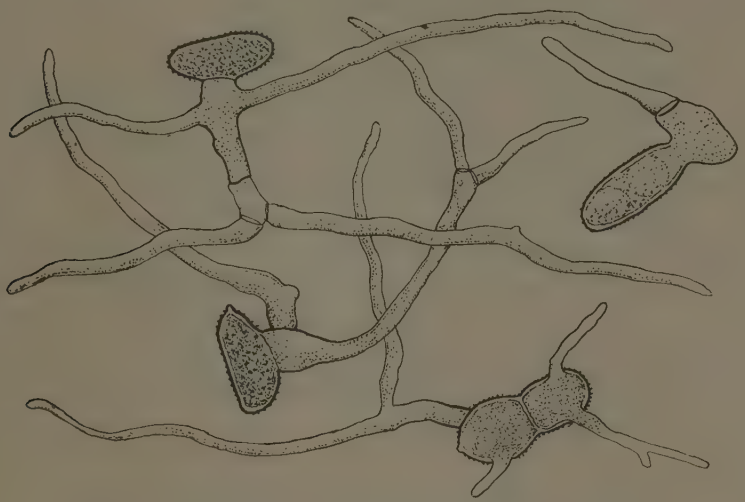

Fig. 8 — Conidi germinati, dopo 24 h. in goccia d'acqua.

Prima di studiare alcune condizioni di germinabilità dei conidi furono eseguite alcune prove preliminari:

a) Influenza della luce: a tre diverse temperature (20°, 26°, 28° C.), conidi fatti germinare alla luce e al buio, non hanno mostrato differenze apprezzabili, sia nella velocità che nella potenza germinativa.

b) Influenza dello spessore d'acqua: alle tre diverse temperature, al buio, conidi fatti germinare in gocce di acqua di diversa grandezza, non hanno mostrato differenze apprezzabili sia nella velocità che nella potenza germinativa.

c) Influenza della concentrazione delle spore: alle tre diverse temperature, al buio, in gocce di uguale grandezza, conidi fatti germinare

alle concentrazioni di 120.000, 240.000 e 480.000 spore per cc., non hanno mostrato fra loro differenze apprezzabili, sia nella velocità che nella potenza germinativa.

Per le prove definitive, conidi provenienti da colture di 7 giorni venivano sospesi in concentrazioni di 500.000/cc., in acqua distillata sterile, in gocce possibilmente piccole, incubati in termostati oscurati.

Sono stati usati vetrini ciascuno con quattro campi delimitati da anello smerigliato. In ogni campo era contenuta una goccia di sospensione di spore. I vetrini erano posti su adatto supporto in una camera umida per impedire l'evaporazione delle gocce ed incubati. Dopo ogni tempo di incubazione, venivano essiccati a 100° C., i conidi risospesi in acido lattico concentrato, quindi ricoperti con vetrino copriogetti e sottoposti alle letture.

Il numero di spore germinate veniva determinato nella maniera che segue: in 20 campi microscopici (200 x) venivano contate tutte le cellule presenti in ogni campo (germinate e non germinate), quindi le cifre rapportate a 100. Per la lunghezza dei tubi germinativi, ne venivano misurati a caso ogni volta 200.

1 - Influenza della temperatura sulla germinazione.

La germinabilità dei conidi non risente in modo particolare l'influenza della temperatura. I dati ottenuti sono riportati in Tab. VII.

Tab. VII

	Percentuale di conidi germinati.							
Dopo ore	10° C.	14° C.	20° C.	24° C.	26° C.	28° C.	32° C.	36° C.
3	—	—	—	—	—	—	—	—
4	—	—	6,1	2,4	2,4	4,1	—	—
5	—	—	20,6	17,1	15,5	12,8	2,0	—
6	—	—	39,6	55,6	53,6	49,4	19,3	—
7	—	1,3	52,2	72,3	67,5	70,2	32,5	—
8	6,7	10,7	73,5	78,9	78,8	78,2	44,6	—
9	11,8	23,3	85,7	80,7	85,5	86,7	55,0	—
10	21,0	32,2	92,2	87,3	84,2	87,0	62,3	—
11	29,7	42,7	96,3	91,4	96,0	89,3	68,9	—
12	42,2	52,0	96,0	95,9	98,0	97,2	71,9	—
24	56,4	68,2					77,8	—

Infatti dagli stessi dati si osserva come praticamente tutte le spore germinino entro 12 ore nella fascia compresa tra i 20° ed i 28° C.

Per le temperature dai 24° ai 28° C si raggiunge una germinazione di circa il 50% di spore prima che per le altre temperature, quindi potremo considerare entro queste l'ottimo di germinazione.

La temperatura massima alla quale la germinazione non avviene più è risultata quella di 36° C. Mentre a 32° C essa è sempre abbastanza intensa, sebbene più lenta. Alla temperatura di 14° C si ha un notevole ritardo nell'inizio della germinazione, ma successivamente la curva assume una notevole ripidità. A 10° C la germinazione è ritardata ancora di più e raggiunge, anche dopo 24 ore, valori percentuali non considerevoli.

Riguardo alla lunghezza dei tubi germinativi, si sono avuti i seguenti risultati, riportati in Tab. VIII:

TAB. VIII

	Lunghezza media, in μ, dei tubi germinativi					
Dopo ore	14° C.	20° C.	24° C.	26° C.	28° C.	32° C.
4	—	1,1	1,5	0,5	1,0	—
5	—	5,0	2,0	4,9	1,8	0,5
6	—	8,9	6,9	11,0	7,5	6,8
7	0,7	12,5	10,5	12,2	10,7	8,6
8	9,8	19,0	19,7	16,5	13,2	9,5
9	16,8	25,9	18,9	24,9	17,2	10,8
10	23,0	26,8	19,6	24,9	18,2	11,7
11	27,6	40,0	35,6	35,0	39,5	12,0
12	34,9	53,2	51,3	51,3	53,2	12,5

Essi confermano che la temperatura ottima di germinazione è compresa tra i 20° ed i 28° C. A 32° C l'accrescimento del tubo è molto lento e facilmente si arresta. Viceversa, alla temperatura di 14° C il ritardo nella germinazione è compensato da una pronta ripresa ed un sufficiente rapido accrescimento del tubo germinativo. A 10° C si sono verificate forti anomalie, in quanto si sono avuti tubi germinativi significativamente brevi e di aspetto normale, accanto a tubi singolarmente lunghi peraltro molto sottili e a ramificazione anomala ([13]). La Fig. 9 illustra il fenomeno descritto.

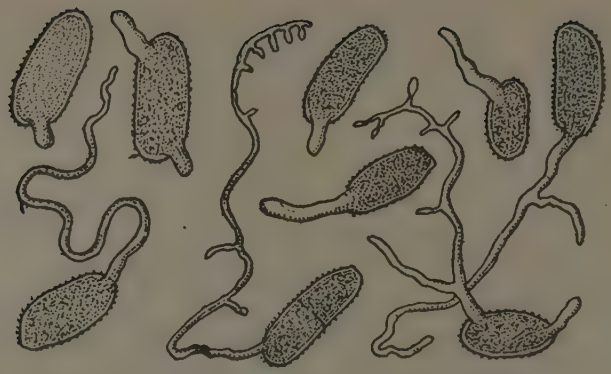

Fig. 9 — Anomala germinazione dei conidi.

Si riportano, in Fig. 10 alcuni grafici che illustrano, sotto alcuni aspetti, l'influenza esercitata dalla temperatura sulla germinazione dei conidi.

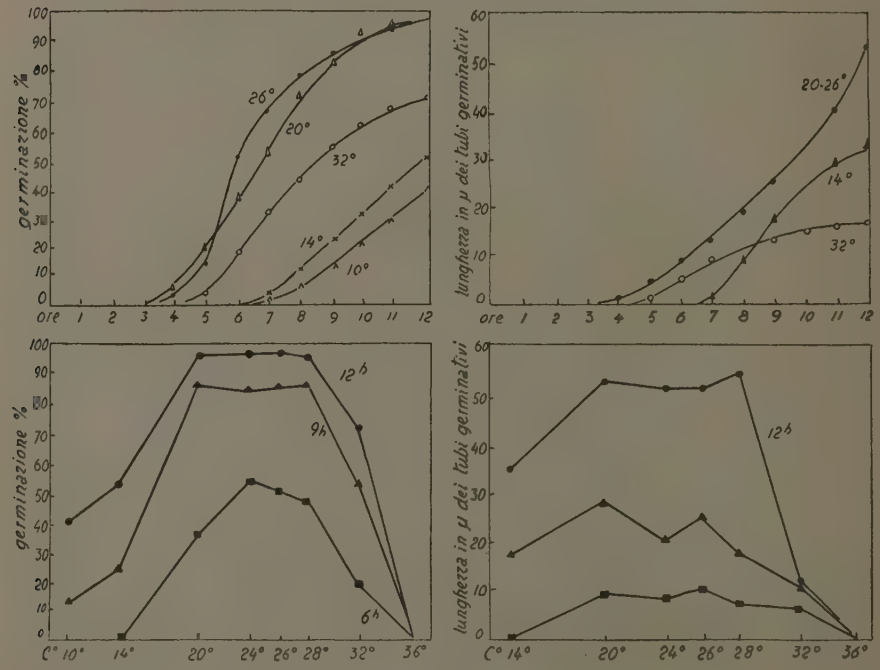

Fig. 10 — Influenza della temperatura sulla percentuale di germinazione dei conidi e sullo sviluppo del tubo germinativo.

2 - Influenza del pH sulla germinazione.

I conidi furono fatti germinare in acqua distillata acidificata con acido lattico e alcalinizzata con NaOH, sì da ottenere i seguenti valori di pH: 3,2; 4,2; 5,8; 7,0; 8,4.

Temperatura di incubazione: 26° C.

I risultati ottenuti furono i seguenti:

Tab. IX

	Percentuale di conidi germinati					Lunghezza media in μ dei tubi germinativi				
Dopo ore	pH 3,2	pH 4,2	pH 5,8	pH 7,0	pH 8,4	pH 3,2	pH 4,2	pH 5,8	pH 7,0	pH 8,4
4	—	—	2,4	1,3	—	—	—	0,5	0,7	—
5	—	1,5	15,5	11,3	3,5	—	1,0	4,9	2,0	0,9
6	1,8	6,7	53,6	45,9	9,5	1,5	2,4	11,0	5,5	2,7
8	3,4	14,9	78,8	67,2	37,7	2,0	4,9	16,6	11,0	6,7
10	47,5	65,6	84,2	82,5	65,1	5,0	10,3	24,9	20,4	13,7
12	68,0	80,2	98,0	89,6	75,3	9,1	21,8	51,3	32,3	24,2

Per la percentuale di germinazione massima, un pH leggermente acido od anche prossimo alla neutralità può essere ritenuto ottimo. Le differenze maggiori sono state ottenute con il pH più basso. Però può dirsi che, per la gamma di pH saggiati, dopo 12 ore di incubazione, le differenze non sono gran chè notevoli.

Una maggiore diversità fra le diverse tesi si nota invece per quanto riguarda la corrispondente lunghezza dei tubi promicelici. Senza dubbio un pH eccessivamente basso non permette un buon sviluppo del tubo promicelico. Lo stesso può dirsi per il pH più alto, anche se la lunghezza media è un poco superiore. Questi dati, d'altra parte, non fanno che confermare quanto già osservato circa l'influenza del pH sullo sviluppo micelico.

3 - Influenza dell'età delle colture sulla germinabilità dei conidi.

Si è voluto saggiare la germinabilità dei conidi provenienti da colture di diversa età. I risultati ottenuti sono riportati in Tab. X.

TAB. X

	Giorni di età delle colture			
	4	84,2	12	23
Percentuale di conidi germinati dopo 10 ore .	82,3	7	83,8	63,4
Lunghezza media dei tubi promicelici dopo 10 ore	33,9	36,9	42,6	14,9

Si deduce che, con l'invecchiamento delle colture, i conidi tendono a perdere la loro potenza germinativa e allo stesso modo il tubo promicelico non si accresce più con la stessa velocità.

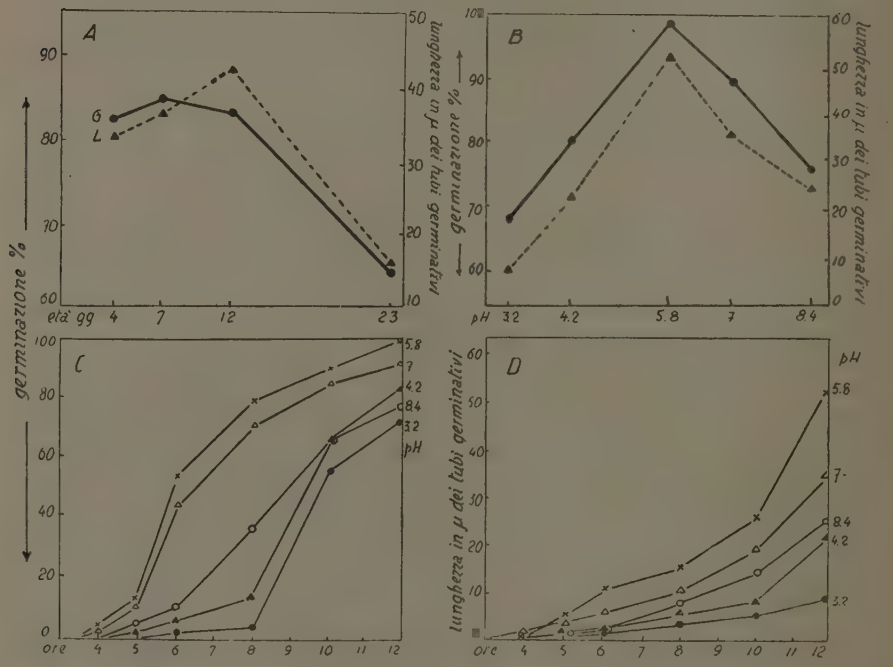

Fig. 11 — *A*. Influenza dell'età dei conidi sulla percentuale di germinazione (*G*) e sulla lunghezza del tubo germinativo (*L*).
B - C - D - Influenza del pH sulla germinazione.

III - LA PRODUZIONE DI PIGMENTI IN COLTURA.

Il fungo produce in coltura un pigmento rossastro che presto colora intensamente il mezzo su cui sviluppa. Tale produzione si verifica più o meno abbondante per molti mezzi, scarsa o nulla per pochi altri. I substrati liquidi favoriscono, più di quelli solidi, la produzione di pigmento. Per i mezzi più idonei, la produzione di pigmento appare intensa subito dopo 3-4 giorni, in un certo contrasto con lo sviluppo micelico che, al contrario, procede molto lentamente e, dopo 3-4 giorni, è appena visibile sul fondo della beuta. Col procedere della coltura, il pigmento da rossastro passa a vinoso, quindi vira sul giallo assumendo una colorazione vicina al topazio. Col tempo il colore tende gradatamente a scomparire; peraltro colture di 80 giorni presentavano sempre i substrati in qualche modo colorati. La produzione di pigmento è favorita partendo da substrati acidi (pH 4,2) e si verifica il viraggio dal rosso al giallo quando il pH raggiunge la neutralità.

1 - Alcune caratteristiche del pigmento.

Aggiungendo al liquido colturale alcuni solventi organici, questi hanno la proprietà di estrarre il colorante. Esattamente, Benzolo, Xilolo, Cloroformio, Tetracloruro di Carbonio e Acetato di etile, aggiunti in eguale quantità al liquido culturale, portato a qualunque valore di pH, ed agitando fortemente, si separa col solvente una porzione rosa. Se la coltura ha una certa età, estratto il colorante, il liquido colturale resta colorato in giallo, evidentemente a causa di prodotti di lisi escreti e disciolti nel mezzo, e la porzione che si estrae col solvente risulta minore, probabilmente perchè il pigmento rosso viene riconsumato dal fungo.

Alcalinizzando il liquido, esso assume colore giallo verdastro: acidificandolo, esso tende a tornare di colore vinoso: ciò significa che il colorante formato varia con il variare del pH. Da notare però che la curva di estinzione del colorante ai vari pH non cambia sostanzialmente.

Può quindi pensarsi che il pigmento rosso venga prodotto a pH acido e man mano che i valori di esso si spostano verso l'alcalinità

viri verso il giallastro, oltrechè essere presente in quantità minore perchè consumato dal fungo.

Contemporaneamente, a partire da un certo momento della coltura, si ha comparsa di altro prodotto catabolico colorato in giallo che va ad interferire nella colorazione del liquido, onde la curva di assorbimento dello stesso appare come la componente delle curve di assorbimento dei singoli pigmenti (Fig. 12).

Il pigmento rosso presenta un massimo di assorbimento a 4700 Å e quello giallo intorno a 4000.

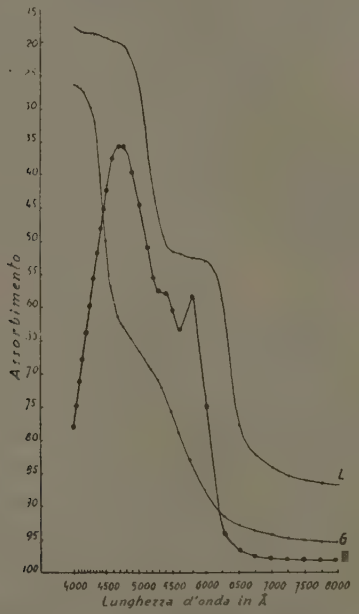

Fig. 12 — Curva di estinzione del pigmento bruto (*L*), e dei singoli pigmenti: rosso (*R*) e giallo (*G*).

2 - Caratteristiche della produzione di pigmento.

Si è voluto indagare sulla produzione di pigmento nel tempo, in relazione al corrispondente sviluppo micelico e alle corrispondenti variazioni di pH.

A questo scopo fu allestita una batteria di beute da 50 cc. contenenti 25 cc. di liquido di Czapek, previamente portato a pH 4,2.

Esse furono seminate con una goccia di sospensione di spore alla densità di 500.000/cc. ed incubate a 22° C. Ad intervalli di tempo venivano prese tre beute e su ciascuna compiute le seguenti operazioni: peso del micelio; misurazione potenziometrica del pH; estrazione con xilolo del pigmento rosso e misurazione spettrofotometrica dell'estratto nel suo punto di massimo assorbimento (4700 Å) e del residuo acquoso, nel suo rispettivo punto di massimo assorbimento (4000 Å). I risultati ottenuti sono riportati in Tab. XII, ed ognuno di essi esprime la media di tre valori trovati.

Dai dati e dal grafico riportati a p. 412, risulta che il pigmento rosso è prodotto che si accompagna al progressivo sviluppo del fungo, mentre il pigmento giallo risulta piuttosto essere un prodotto di lisi. La produzione massima di quest'ultimo, infatti, si verifica dopo che il peso micelico ha cominciato a decrescere.

3 - Influenza della composizione del mezzo sulla produzione di pigmento.

In mezzo liquido (liquido di Czapek preso come base e sostituito di volta in volta nella sorgente carbonata o azotata) a pH 5,2 lo sviluppo di pigmento è stato favorito dalle seguenti sorgenti:

a) del carbonio, in presenza di $NaNO_3$ come sorgente azotata:

Saccarosio	++++	Galattosio	—
Maltosio	++++	Glicerina	—
Glucosio	+++	Mannite	—
Amido	++	Na-succinato	—
Lattosio	±	K-tartrato neutr.	—

b) dell'azoto, in presenza di glucosio come sorgente del carbonio:

Arginina	++++	$(NH_4)_2SO_4$	++
Triptofano	+++	Peptone	++
$NaNO_3$	+++	Caseina idrol.	++
NH_4NO_3	++	Glicina	+
		Asparagina	+

TAB. XII

Giorni di coltura	Peso micelico grammi	pH	Estinzione delle soluzioni	
			Rosso	Giallo
4	0,0100	5,7	0,028	—
7	0,0163	6,1	0,035	—
11	0,0322	6,1	0,057	—
15	0,0482	6,6	0,078	—
20	0,0978	6,6	0,287	0,173
25	0,2029	7,4	0,413	0,427
30	0,2168	8,0	0,510	0,562
39	0,1634	8,2	0,287	0,755
42	0,1793	8,2	0,370	0,745
50	0,1455	8,2	0,360	0,637

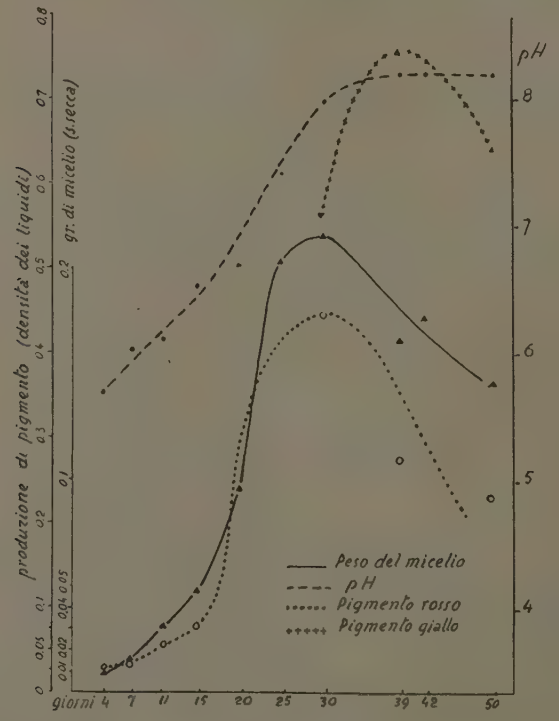

Fig. 13 — Produzione di pigmento in relazione allo sviluppo ed alla variazione di pH.

L'aggiunta di vitamine al liquido di Czapek non ha portato variazioni significative nella produzione di pigmento, allo stesso modo di come non apportò variazioni nello sviluppo vegetativo.

CONCLUSIONI

Notevoli attacchi di *Cladosporium variabile* (Cke) de Vries a colture di spinacio hanno occasionato qualche ricerca sopra questo parassita.

Esso presenta la caratteristica di organizzare le proprie fruttificazioni sul tipo *Heterosporium* in natura e sul tipo *Cladosporium* in coltura tanto che lo stesso parassita si trova diversamente descritto sotto questi due generi, anche se la letteratura più recente lo considera *Cladosporium*.

E' stato saggiato il suo comportamento su vari substrati, notandosi cospicue differenze a seconda della composizione degli stessi.

Ricerche sul pH ottimo di sviluppo hanno mostrato che questo si aggira intorno a 5,2. A pH 3,1 e 8,4 lo sviluppo è praticamente nullo.

Sono stati indagati i limiti termici di sviluppo, risultando ottimale la temperatura intorno a 20° - 22° C.

Per quanto si riferisce alle esigenze trofiche, si è visto che, fra le sorgenti di carbonio le più utilizzate sono saccarosio, maltosio e glucosio. Per le sorgenti azotate, bene utilizzato è l'azoto organico; mentre dell'azoto minerale viene utilizzato solo quello nitrico.

Finalmente alcuni saggi auxologici indicano che la specie, almeno nei nostri isolati, ha comportamento autotrofico.

E' stata anche indagata la germinazione delle spore, rilevando la percentuale di germinazione e la lunghezza media del tubo germinativo, non sempre, come è stato visto, corrispondenti. In particolare, per quanto si riferisce alla temperatura ottima di germinazione, essa è compresa nella fascia fra i 20° ed i 28° C; circa il pH ottimo di germinazione, esso è leggermente acido o anche prossimo alla neutralità; circa quanto concerne l'influenza dell'età, anche per *Cladosporium variabile*, come per altre specie, la percentuale di germinazione si abbassa in rapporto all'aumento dell'età dei conidi.

Finalmente è stata rilevata da parte del fungo la produzione in coltura di un pigmento rosso e di uno giallo, dandone di essi alcune caratteristiche preliminari.

Ulteriori indagini sono in corso e di esse sarà riferito prossimamente.

P. GAMBOGI

BIBLIOGRAFIA

1) BREMER H. et Al. - *Beiträge zur Kenntnis der parasitischen Pilze der Türkei. Teil III.* Rev. Fac. Sc. Univ. Istambul, 13, *1*, 1948.

2) DE VRIES G. A. - *Contribution to the knowledge of the Genus Cladosporium Link ex Fr.*, Baarn, 1952.

3) GLASSCOCK H. H. et WARE W. M. - *Heterosporium leaf-spot of spinach.* Gard. Chron. III, 106, *100*, 1939.

4) HADŽSTEVIĆ D. - *The incidence of plant pests and diseases in the PR of Serbia in 1953.* Zas. Bibja, 27, *89*, 1955.

5) KERN H. - *Hungary: new or rare cryptogamic diseases.* Int. Bull. of Pl. Prot., 5, *200*, 1931.

6) KRENNER J. A. - *Einige Mykologische und pflanzenpathologische Angaben aus Ungarn.* Bot. Közl, 28, *62*, 1941.

7) LAURENT E. - Ann. Ist. Pasteur, 3, *362*, 1889. [citato da FOSTER J. W., *Chemical Activities of Fungi.* Ac. Press. Publ. N. Y., 1949.

8) MOORE W. C. - *New and interesting plant diseases.* Trans. Brit. Myc. Soc. 28, *127*, 1945.

9) PICARD M. - *L'anée phytopathologique* 1947-48. Rev. Myc., 13, *36*, 1948.

10) SAKAMURA T. - Planta, 11, *765*, 1930. [Citato da FOSTER J. W.: *Chemical Achivities of Fungi.* Ac. Press. Publ. N. Y., 1949].

11) VAN POETEREN N. - *Verslag over de werkzaambaden van den Plantenziektenkunding Dienst in het jaar 1931.* Verl. en Med. Plantenz. Dien. te Wageningen, *66*, 1932.

12) VAN POETEREN N. - *Verslag over de Werkzaamheden van den Plantenziektenkundingen Dienst in het jaar 1931.* Verl. en Med. Plantenz. Dien. te Wageningen, gen, *72*, 1933.

13) VERONA O. - *Deviazioni strutturali e morfologiche nell'apparato vegetativo dei funghi* - Atti. Ist. Bot. Pavia, 15, *118*, 1957.

14) VOGLINO P. - *I funghi parassiti più dannosi alle piante coltivate nella circoscrizione delle Provincie di Torino, Cuneo e Novara nell'anno 1922-23.* Ann. R. Acc. Agr. Torino, 67, *93*, 1925.

15) — *Plant diseases in Denmark in* 1950. *Annual survey compiled by the State Phytopathological Experiment Station.* Tids. Plant. 56, *1*, 1952.